

Rafflesia hasseltii SURENGAR (BUNGA PAKMA)
KAJIAN MORFOLOGI DAN ANATOMI ORGAN-ORGAN
RAMENTA, ANTER DAN OVARI

oleh

Muhammad Amin Bin Salleh

Satu disertasi yang diserahkan untuk
memenuhi sebahagian dari syarat penganugerahan
Ijazah Sarjana Muda Sains Dengan Kepujian

Pusat Pengajian Sains Kajihayat
Universiti Sains Malaysia
Pulau Pinang, Malaysia

Mac 1996

KANDUNGAN

	Muka Surat
PENGHARGAAN	i
ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iii
SENARAI JADUAL	iv
SENARAI GAMBAR	v
1.0 PENGENALAN	1
2.0 TINJAUAN BAHAN BACAAN	3
3.0 BAHAN DAN KAEDAH	11
3.1 Kerja lapangan	11
3.2 Tunas-tunas dan bunga <i>Rafflesia hasseltii</i> Suringar	11
3.3 Bahan-bahan bagi persediaan slaid	13
3.4 Bahan-bahan bagi pengamatan sampel melalui mikroskop elektron penskanan	14
3.5 Persediaan slaid	15
3.6 Persediaan tisu bagi pengamatan melalui mikroskop elektron penskanan	17
4.0 KEPUTUSAN	19
4.1 Morfologi keratan memanjang bunga <i>Rafflessia</i> <i>hasseltii</i> Suringar	19
4.2 Anatomi	21
4.2.1 Ramenta	21
4.2.2 Organ pembiakkan jantan (anter)	27
4.2.3 Organ pembiakkan betina (Ovari)	46
5.0 PERBINCANGAN	58
6.0 KESIMPULAN	68
7.0 RUJUKAN	70
8.0 LAMPIRAN	

PENGHARGAAN

Terlebih dahulu, saya bersyukur kepada Allah s.w.t kerana dengan pertolonganNya dan kekuatan yang diberikan, dapat saya menjalankan dan menyiapkan projek ini akhirnya.

Saya juga mengucapkan berbanyak-banyak terima kasih kepada Dr. Adirukmi Noor Saleh, selaku penyelia projek yang telah banyak memberi bantuan dan nasihat di dalam menjalankan projek ini.

Di samping itu tidak dilupakan juga kepada orang perseorangan dan kakitangan Pusat Pengajian Sains Kajah yang telah banyak membantu saya di dalam mendapatkan sampel tunas-tunas dan bunga *Rafflesia hasseltii* Suringar, menyediakan slaid-slaid histologi, penyediaan sampel bagi pemerhatian melalui mikroskop elektron penskanan serta mengambil gambar-gambar.

ABSTRAK

Kajian ke atas bunga *Rafflesia hasseltii* Suringar ini melibatkan peringkat tunas-tunas dan bunga berdasarkan morfologi dan anatomi.

Kajian morfologi ke atas keratan memanjang bunga *R. hasseltii* Suringar ini, didapati terdapat struktur-struktur seperti tiub perigon, cuping perigon (petal), diafragma dan kolum turus tengah yang menyokong bahagian-bahagian seperti unjuran-unjuran (processes), anter dan ovari. Ramenta pula didapati pada permukaan sebelah dalam diafragma. Manakala tingkap (window) didapati pada permukaan cuping perigon, di luar dan dalam (berdekatan bukaan) diafragma.

Pemerhatian melalui mikroskop cahaya bagi sel-sel apek dan tangkai ramenta menunjukkan ia dari jenis parenkima.

Pemerhatian anter melalui mikroskop cahaya dan mikroskop elektron penskanan menunjukkan terdapat bijirin debunga di dalam mikrosporangium. Bijirin debunga yang paling matang berbentuk bulat dan licin pada anter peringkat bunga.

Manakala kajian melalui mikroskop cahaya dan mikroskop elektron penskanan bagi ovari menunjukkan terdapat rongga-rongga ovari yang mengandungi sel-sel gametik dan megaspora pada tunas-tunas dan bunga.

ABSTRACT

Research on *Rafflesia hasseltii* Suringar was carried out based on the morphology and anatomy of the buds and flower stages.

Morphological research on longitudinal sections of the flower of *Rafflesia hasseltii* Suringar demonstrated that there are structures such as perigone (lower portion), petal-like lobes, diaphragm and central column that support processes, anthers and ovaries. Ramenta can be found in the inner surface of the diaphragm. Meanwhile, windows are located at the surface of petal-like lobes, outer and inner (near aperture) surface of diaphragm.

Observation via light microscopy on apex and stalk of ramenta's cell showed that they are a kind of parenchyma.

Observation on anthers via light microscopy and scanning electron microscopy shows that there are pollen grains contained within microsporangium. The mature pollen grains are smooth and round in shape.

Meanwhile, research via light microscopy and scanning electron microscopy on ovaries shows that there are gametic cells and megaspores at the buds and flower stages.

SENARAI JADUAL

Muka Surat

1. Jadual 1.1 : Perkaitan di antara diameter akar
perumah dan bilangan tunas *Rafflesia* sp.
yang tumbuh di atasnya, disertakan juga
bilangan tunas yang hidup dan mati bagi
setiap julat diameter akar perumah . 7
2. Jadual 1.2 : Menunjukkan bilangan tunas dan
bunga, diameter(cm) dan berat(gm) bagi
setiap peringkat A,B,C,D dan E. Julat
dan min bagi diameter dan berat juga
disertakan bagi setiap peringkat. 12

SENARAI GAMBAR

	Muka Surat
1. Gambar 1 : Keratan memanjang bunga kembang E, menunjukkan struktur tiub perigon, cuping perigon (petal), diafragma, kolum turus tengah, anter, ovari, unjuran (processes), cakera, ramenta dan tingkap (window) .	20
2. Gambar 2 : Ramenta satu menunjukkan sel-sel parenkima pada bahagian apek pada keratan memanjang.	23
3. Gambar 3 : Ramenta satu pada bahagian apek menunjukkan sel-sel parenkima pada keratan memanjang. Kelihatan nukleus yang bewarna merah dan penebalan pada dinding sel.	23
4. Gambar 4 : Ramenta dua menunjukkan sel-sel parenkima pada bahagian apek melalui keratan memanjang.	24
5. Gambar 5 : Ramenta dua menunjukkan sel-sel parenkima pada bahagian apek, kelihatan terdapat penebalan dinding dan nukleus sel melalui keratan memanjang.	24
6. Gambar 6 : Ramenta tiga menunjukkan sel-sel parenkima pada bahagian apek melalui keratan memanjang.	25
7. Gambar 7 : Ramenta tiga menunjukkan sel-sel parenkima yang mempunyai penebalan dinding. Kelihatan juga nukleus sel, melalui keratan memanjang.	25
8. Gambar 8 : Tangkai ramenta tiga menunjukkan	26

- sel-sel parenkima melalui keratan memanjang.
9. Gambar 9 : Tangkai ramenta tiga menunjukkan sel-sel di tengah tangkai lebih longgar berbanding dengan sel-sel di luar tangkai. 26
10. Gambar 10 : Anter tunas bunga peringkat A, menunjukkan bijirin debunga di dalam mikrosporangium melalui keratan memanjang. 29
11. Gambar 11 : Anter tunas bunga peringkat A, menunjukkan bijirin debunga di dalam mikrosporangium melalui keratan memanjang. 29
12. Gambar 12 : Anter tunas bunga peringkat A menunjukkan bijirin debunga di dalam mikrosporangium melalui keratan memanjang. 30
13. Gambar 13 : Anter tunas bunga peringkat A menunjukkan bijirin debunga melalui keratan memanjang. 30
14. Gambar 14 : Anter tunas bunga peringkat B menunjukkan bijirin debunga di dalam mikrosporangium melalui keratan memanjang. 31
15. Gambar 15 : Anter tunas bunga peringkat B menunjukkan bijirin debunga di dalam mikrosporangium melalui keratan memanjang. 31
16. Gambar 16 : Anter tunas bunga peringkat C menunjukkan bijirin debunga di dalam mikrosporangium. Bijirin debunga 32

- didapati tertabur di dalam lokul anter melalui keratan memanjang.
17. Gambar 17 : Anter tunas bunga peringkat C 32
menunjukkan bijirin debunga di dalam lokul anter melalui keratan memanjang.
18. Gambar 18 : Anter tunas bunga peringkat C 33
menunjukkan bijirin debunga melalui keratan memanjang.
19. Gambar 19 : Anter tunas bunga peringkat C 33
menunjukkan bijirin debunga melalui keratan memanjang.
20. Gambar 20 : Anter tunas bunga peringkat D 34
menunjukkan bijirin debunga di dalam mikrosporangium melalui keratan memanjang.
21. Gambar 21 : Anter tunas bunga peringkat D 34
menunjukkan bijirin debunga melalui keratan memanjang.
22. Gambar 22 : Anter tunas bunga peringkat D 35
menunjukkan bijirin debunga melalui keratan memanjang
23. Gambar 23 : Anter tunas bunga peringkat D 35
menunjukkan bijirin debunga melalui keratan memanjang.
24. Gambar 24 : Anter bunga kembang E 36
menunjukkan bijirin debunga yang tertabur di dalam lokul anter melalui keratan memanjang.
25. Gambar 25 : Anter bunga kembang E 36
menunjukkan bijirin debunga di dalam lokul anter melalui keratan memanjang

26. Gambar 26 : Anter bunga kembang E	37
menunjukkan bijirin debunga melalui keratan memanjang.	
27. Gambar 27 : Anter bunga kembang E	37
menunjukkan bijirin debunga melalui keratan memanjang .	
28. Gambar 28 : Anter tunas bunga peringkat A	38
melalui mikroskop elektron penskanan	
29. Gambar 29 : Anter tunas bunga peringkat A	38
melalui mikroskop elektron penskanan.	
30. Gambar 30 : Anter tunas bunga peringkat A	39
melalui mikroskop elektron penskanan.	
31. Gambar 31: Anter tunas bunga peringkat B	39
melalui mikroskop elektron penskanan.	
32. Gambar 32 : Anter tunas bunga peringkat B	40
melalui mikroskop elektron penskanan.	
33. Gambar 33 : Anter tunas bunga peringkat B	40
melalui mikroskop elektron penskanan.	
34. Gambar 34 : Anter tunas bunga peringkat C	41
melalui mikroskop elektron penskanan.	
35. Gambar 35 : Anter tunas bunga peringkat C	41
melalui mikroskop elektron penskanan.	
36. Gambar 36 : Anter tunas bunga peringkat C	42
melalui mikroskop elektron penskanan.	
37. Gambar 37 : Anter tunas bunga peringkat D	42
melalui mikroskop elektron penskanan.	
38. Gambar 38 : Anter tunas bunga peringkat D	43
melalui mikroskop elektron penskanan.	
39. Gambar 39 : Anter tunas bunga peringkat D	43
melalui mikroskop elektron penskanan.	
40. Gambar 40 : Anter bunga kembang E melalui	44

mikroskop elektron penskanan.	
41. Gambar 41 : Anter bunga kembang E melalui mikroskop elektron penskanan.	44
42. Gambar 42 : Anter bunga kembang E melalui mikroskop elektron penskanan.	45
43. Gambar 43 : Ovari tunas bunga peringkat D menunjukkan sel-sel gametik melalui keratan memanjang.	49
44. Gambar 44 : Ovari tunas bunga peringkat D menunjukkan sel gametik melalui keratan memanjang.	49
45. Gambar 45 : Ovari bunga kembang E menunjukkan sel gametik dan megaspora bebas melalui keratan memanjang.	50
46. Gambar 46 : Ovari tunas bunga peringkat A melalui mikroskop elektron penskanan menunjukkan rongga ovari.	50
47. Gambar 47 : Ovari tunas bunga peringkat A melalui mikroskop elektron penskanan menunjukkan rongga ovari.	51
48. Gambar 48 : Ovari tunas bunga peringkat A melalui mikroskop elektron penskanan menunjukkan sel gametik melekat pada dinding ovul.	51
49. Gambar 49 : Ovari tunas bunga peringkat B melalui mikroskop elektron penskanan menunjukkan rongga ovari.	52
50. Gambar 50 : Ovari tunas bunga peringkat B melalui mikroskop elektron penskanan menunjukkan rongga ovari.	52
51. Gambar 51: Ovari tunas bunga peringkat B	53

melalui mikroskop elektron penskanan menunjukkan sel gametik pada dinding ovul.	
52. Gambar 52 : Tunas bunga peringkat C melalui mikroskop elektron penskanan tiada menunjukkan rongga ovari, tetapi terdapat sel berlignin.	53
53. Gambar 53 : Tunas bunga peringkat C melalui mikroskop elektron penskanan menunjukkan sel-sel berlignin.	54
54. Gambar 54 : Tunas bunga peringkat C melalui mikroskop elektron penskanan menunjukkan sel berlignin pada pembesaran yang lebih tinggi.	54
55. Gambar 55 : Ovari tunas bunga peringkat D melalui mikroskop elektron penskanan menunjukkan rongga ovari.	55
56. Gambar 56 : Ovari tunas bunga peringkat D melalui mikroskop elektron penskanan menunjukkan sel gametik.	55
57. Gambar 57 : Ovari tunas bunga peringkat D melalui mikroskop elektron penskanan menunjukkan sel gametik dengan pembesaran yang lebih tinggi.	56
58. Gambar 58 : Ovari bunga kembang E melalui mikroskop elektron penskanan menunjukkan rongga ovari.	56
59. Gambar 59 : Ovari bunga kembang E melalui mikroskop elektron penskanan menunjukkan sel-sel gametik.	57
60. Gambar 60 : Ovari bunga kembang E melalui	57

mikroskop elektron penskanan
menunjukkan sel gametik melalui
pembesaran yang lebih tinggi.

1.0 PENGENALAN

Rafflesia sp. atau bunga pakma merupakan suatu genus tumbuhan. Ianya telah diketahui mengandungi 16 jenis spesies yang jarang ditemui dan spesies ini terdedah kepada kepupusan pada masa ini. *Rafflesia* sp. didapati hidup di beberapa tempat di Asia Tenggara, misalnya di Borneo, Sumatra, Jawa, Semenanjung Malaysia, Thailand dan Filipina. (Willem Meijer dan Matthew Wong, 1993).

Rafflesia sp. adalah salah satu bunga yang paling menarik. Saiznya boleh menjangkau sehingga 97 cm diameter, iaitu bunga yang paling besar pernah dicatatkan dari spesies *Rafflesia arnoldii* R.Brown yang dijumpai semasa ekspedisi di Sumatra pada tahun 1818. Sungguhpun *Rafflesia* sp. dikenali di kalangan penduduk tempatan, gambarannya hanya pertama kali ditulis oleh seorang ahli botani British iaitu Joseph Arnold. Beliau bersama dengan Sir Thomas Stamford Raffles telah menemui spesies *R. arnoldii* R.Brown di Sumatra pada tahun 1818. Oleh itu nama spesies tumbuhan ini telah dinamakan *R. arnoldii* R.Brown bersempena dengan nama mereka yang telah menemui bunga ini (Kamarudin Mat Salleh, 1991).

Di dalam kajian yang dijalankan ini, spesies *Rafflesia hasseltii* Suringar telah diambil di kawasan hutan simpan Manong yang letaknya lebih kurang 10 kilometer dari bandar Kuala Kangsar, Perak. Perjalanan dengan berjalan kaki ke kawasan terdapatnya spesies *R. hasseltii* Suringar ini memakan masa lebih kurang 2 jam. Apabila sampai di kawasan spesies *R. hasseltii* Suringar ini hidup iaitu di tapak pertama, didapati terdapat kesan-kesan bunga yang telah mengalami pereputan. Kelihatan warnanya adalah hitam. Di samping itu didapati juga beberapa tunas *R. hasseltii* Suringar yang tumbuh pada akar perumahannya iaitu *Tetrastigma* sp. . Saiz bagi tunas-tunas ini adalah berbeza di antara satu sama lain.

Di tapak kedua, telah dijumpai satu bunga yang sedang kembang . Di samping itu, terdapat juga beberapa tunas *R. hasseltii* Suringar yang berbagai-bagai saiznya. Kedudukan bagi kedua-dua tapak ini adalah di kawasan lereng bukit.

Di dalam kajian ini, *R. hasseltii* Suringar dikaji dari segi morfologi dan anatomi. Beberapa peringkat tunas (berdasarkan julat diameter yang tertentu) dan satu bunga kembang telah digunakan sebagai sampel. Peringkat-peringkat tersebut adalah peringkat tunas iaitu peringkat A,B,C dan D serta satu peringkat bunga yang sedang kembang, iaitu peringkat E. Untuk maklumat yang lebih lanjut, rujuk pada jadual 1.2.

Bagi kajian morfologi, bunga *R.hasseltii* Suringar yang sedang kembang (peringkat E) dilihat melalui keratan memanjang.

Bagi kajian anatomi (melalui slaid-slaid), peringkat-peringkat dan bahagian-bahagian yang dikaji adalah:

- a) Tunas bunga peringkat A-stamen.
- b) Tunas bunga peringkat B-stamen.
- c) Tunas bunga peringkat C-stamen.
- d) Tunas bunga peringkat D-stamen dan ovari.
- e) Bunga kembang E-stamen, ovari dan ramenta.

Bagi kajian anatomi (melalui mikroskop elektron penskanan) pula, kajian dilakukan ke atas peringkat-peringkat serta bahagian-bahagian seperti berikut:

- a) Tunas bunga peringkat A-stamen dan ovari.
- b) Tunas bunga peringkat B-stamen dan ovari.
- c) Tunas bunga peringkat C-stamen dan ovari.
- d) Tunas bunga peringkat D-stamen dan ovari.
- e) Bunga kembang E-stamen dan ovari.

2.0 TINJAUAN BAHAN BACAAN

Berdasarkan pengkelasan bunga *Rafflesia* sp. (Hsuan, 1964) adalah seperti berikut:

Alam	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Angiosperma
Subkelas	: Dikotiledon
Order	: Aristolochiales
Famili	: Rafflesiaceae (Cytinaceae)
Genus	: <i>Rafflesia</i> sp.

Menurut Meijer (1985), genus *Rafflesia* sp. terdiri daripada 13 atau 14 spesies. Di antaranya dua spesies sudah tidak pernah dijumpai sejak Perang Dunia Kedua dan mungkin sudah pupus.

Senarai *Rafflesia* sp. yang telah dikenalpasti dan taburannya adalah seperti berikut (Ghazali, 1988):

<u>Spesies</u>	<u>Tempat asal</u>
1. <i>R. manillana</i> Teschem	Luzon
2. <i>R. borneensis</i> Koord	Borneo
3. <i>R. patma</i> Bl	Sumatra
4. <i>R. micropylora</i> Meijer	Sumatra
5. <i>R. rochussenii</i> Teijson & Binn	Jawa
6. <i>R. kerii</i> Meijer	Thailand (Selatan)
7. <i>R. hasseltii</i> Suringar	Sumatra
8. <i>R. gadutensis</i> Meijer	Sumatra
9. <i>R. cantleyi</i> Solms-Laubach	Malaysia
10. <i>R. arnoldii</i> R. Brown	Sumatra, Borneo
11. <i>R. keithii</i> Meijer	Borneo

12. <i>R. schadenborgiana</i> Gooport	Mindanao
13. <i>R. pricei</i> Meijer	Borneo
14. <i>R. tengku-adlinii</i> Mat Salleh & Latiff	Borneo

Secara amnya bunga *Rafflesia* sp. menyamai dengan tumbuhan lain, tetapi ia mempunyai keunikan yang tersendiri. Keunikan ialah pada saiz dan bentuknya. *Rafflesia* sp. bergantung kepada perumah iaitu, tergolong di dalam tumbuhan parasitik. Ia mengalami keadaan yang khusus, struktur yang dapat dilihat hanyalah bunga. *Rafflesia* sp. tidak mempunyai akar, daun serta batang. Dengan kata lain, tiada yang hijau (berklorofil). Bahagian bukan bunga ialah saluran mikroskopik (filamen) yang menyerupai akar pada perumah *Tetrastigma* sp.. Filamen ini membekalkan bahan-bahan makanan kepada bunga *Rafflesia* sp. yang diambil daripada tumbuhan perumah tadi. (Kamarudin Mat Salleh, 1991).

Rafflesia sp. mempunyai bahagian bawah seakan tiub dipanggil perigon iaitu bahagian utama bunga ini. Pada bahagian atas tiub perigon dikelilingi oleh lima petal seakan cuping serta struktur seakan 'shelf' yang dipanggil diafragma yang menonjol keluar dari tengah bunga, menghasilkan bukaan di tengahnya. Di dalam tiub perigon, iaitu pada dinding bahagian dalam permukaan diafragma diselaputi oleh apendej rambut yang dipanggil ramenta. Bentuk dan saiz ramenta adalah penting dan merupakan ciri tetap bagi sesuatu jenis *Rafflesia* sp. . Hal ini merupakan suatu ciri pengkelasan bagi *Rafflesia* sp.. Ramenta ini tidak melanjut hingga ke hujung bukaan tetapi berada sehingga ke pinggir bukaan diafragma sahaja. Pada bahagian bukaan (aperture) dihiasi oleh struktur yang dipanggil tingkap (window) dan struktur ini adalah berbentuk bulat (Kamarudin Mat Salleh, 1991).

Cuping perigon adalah menyamai petal pada bunga-bunga lain tetapi ia berbeza kerana lebih tebal dan berisi, dengan struktur titik-titik 'wart' yang terdapat pada permukaannya. Corak serta warna titik ini adalah tetap bagi sesuatu spesies dan digunakan di dalam pengecaman. Oleh sebab inilah, sesuatu spesies *Rafflesia* sp. dapat

dicamkan daripada gambar berwarna, ditambah jika gambar diambil dari sudut yang berlainan (Kamarudin Mat Salleh, 1991).

Pada bahagian tengah tiub perigon terdapat struktur yang dipanggil kolum turus tengah. Ia menyokong struktur yang dipanggil cakera (disk). Pada bahagian atas cakera pula didapati struktur unjuran-unjuran tegak (processes). Struktur kolum turus tengah juga menampung organ-organ seks bagi tumbuhan ini, samada organ jantan (anter) atau organ betina (ovari). Bentuk dan panjang unjuran-unjuran tegak adalah agak sama pada beberapa spesies. Fungsi unjuran-unjuran tegak ini masih belum diketahui. Adalah difikirkan, ia muncul daripada stil dan berubah menjadi struktur seperti tersebut. Pendapat lain menyatakan bahawa, unjuran-unjuran tegak tersebut tidak berkaitan dengan stil tetapi ia didorong oleh jumlah permukaan yang besar, difikirkan fungsinya untuk membebaskan haba (Kamarudin Mat Salleh, 1991).

Rafflesia sp. adalah suatu tumbuhan diecius yang mempunyai bunga jantan dan bunga betina pada tumbuhan berlainan. Walaupun ada yang menyatakan terdapat *Rafflesia* sp. yang mempunyai bunga hermafrodit tetapi ia sukar ditemui. Bagi menentukan samada sesuatu bunga *Rafflesia* sp. ini monoecious atau diecius adalah susah kerana sukar untuk menyelami organ-organ dalaman *Rafflesia* sp. melalui perumahannya. Walaubagaimanapun dalam turutan pembungaan dalam satu daripada satu akar perumah tunggal, didapati kesemua bunganya adalah satu jantina. Stamen didapati dengan banyak dan cepudebunganya adalah tidak bergagang. Bahagian apeks bagi turus tengah (percantuman di antara filamen-filamen dengan benangsari) adalah berbentuk diskoid. Manakala ovarinya adalah inferior. Ia mempunyai empat hingga lapan karpel. Satu lokulnya mengandungi satu kompleks yang tidak sebetul yang mempunyai ruang berseptum yang tidak lengkap dan menghasilkan banyak ovul di dindingnya. Buahnya adalah jenis berri dan mengeluarkan biji yang sangat banyak (Kuijt, 1969).

Pada bunga jantan, permukaan bawah piring atau cakera (disk), terdapat anter berbentuk bulat yang terbenam di dalam alur-alur di bawah piring dan tersusun mengelilingi bingkai kolum turus tengah. Pada bunga betina ovari adalah inferior dan

corak pemplasiaan adalah jenis parictal. Permukaan bawah piring ini adalah merupakan kawasan stigma (Meijer, 1958). Ovari biasanya tidak berlokul tetapi merupakan suatu sistem yang kompleks dan terdiri daripada banyak terusan atau rongga di mana ovul didapati. Menurut Kuijt (1969), ovari dan buahnya terdiri daripada satu sistem rongga dan terusan di mana akan menghasilkan banyak biji benih yang bersaiz kecil (kurang daripada 1.0 mm panjang dan kurang daripada 1.0 mm lebar).

Buah merupakan satu gumpalan berwarna perang yang terdapat pada dasar piring kolum turus tengah dan disaluti oleh sisik. Buah ini mengambil masa tujuh hingga lapan bulan sebelum menjadi matang.

Garis pusat atau diameter beberapa spesies *Rafflesia* sp. adalah diantara 20.0 cm sehingga 90.0 cm (Meijer, 1985). Bunga yang paling besar iaitu *R. arnoldii* R. Brown mempunyai garis pusat sebesar 51.0 cm sehingga 92.0 cm dan seberat 9.0 kg. Sementara spesies di Semenanjung Malaysia pula adalah lebih kecil dan berukuran di antara 20.0 sehingga 40.0 cm.

Perumah bagi *Rafflesia* sp. , iaitu *Tetrastigma* sp. (Famili : Vitacea). Kajian anatomi perumah didapati ia mempunyai tisu-tisu lembut dan terdapat banyak liang-liang. Manakala permukaannya adalah berahur. Tisu perumah juga mengandungi kandungan air yang tinggi, seperti yang dapat dilihat melalui titisan air yang keluar apabila batang atau akar perumah dipotong. Perkaitan di antara diameter akar perumah dan bilangan tunas *Rafflesia* sp. yang tumbuh di atasnya adalah seperti pada jadual 1.1 dibawah (Ervizal A.M. Zuhud, 1991).

Jadual 1.1 Perkaitan di antara diameter akar perumah dan bilangan tunas *Rafflesia* sp. yang tumbuh di atasnya, disertakan juga bilangan tunas yang hidup dan mati bagi setiap julat diameter akar perumah (Ervizal A.M. Zuhud,1991).

Diameter akar (cm)	Bilangan tunas		Jumlah
	hidup	mati	
< 0.5	17	7	24
0.6-1.0	23	18	41
1.1-2.0	24	11	35
2.1-3.0	16	8	24
3.1-4.0	3	1	4
4.1-5.0	3	0	3
>5.1	1	0	1

Di antara spesies perumah *Rafflesia* sp. yang terdapat di Semenanjung Malaysia ialah *Tetrastigma leucastaphylum* , *T. diepenhosti* (John Dawn,1991) dan *T. lanceolarium* (W. Meijer, 1985).

Pendebungaan *Rafflesia* sp. masih lagi dibincangkan. Kajian telah dijalankan oleh sekumpulan ahli botani yang diketuai John Beaman. Misalnya bagi spesies *R. pricei* Meijer menghasilkan bau yang menarik sejenis lalat 'blue bottle'. Lalat ini dikatakan sebagai agen pendebungaan yang utama .Lalat pada mulanya hinggap samada di atas cuping perigon atau di atas diafragma. Selepas itu, ia akan memasuki bahagian pembukaan bunga tersebut dan terbang beberapa kali di sekeliling cakera (disk) sebelum hinggap di atas ramenta yang berbulu di bawahnya. Kadangkala ia akan berhenti sebentar di situ sebelum masuk ke bawah cakera tersebut, mungkin untuk mengambil rembesan anter (Beaman dan Adam ,1983). Lalat ini kemudiannya akan terbang ke bunga betina serta mendebugakan bunga betina bersama dengan debunga yang dibawa bersama dari bunga jantan (Kamarudin Mat Salleh, 1991).

Menurut kajian yang telah dilakukan oleh Ervival A.M. Zuhud (1991), terdapat beberapa spesies lalat yang terlibat dengan pendebungaan *R. patma* Bl di hutan simpan Leuwicung Sancang, Jawa Barat , Indonesia. Spesies tersebut ialah lalat hijau (*Lucilia* sp.), lalat biru (*Protocalliphora* sp.), lalat kelabu (*Sarcophaga* sp.) dan lalat buah (*Drosophila* sp.).

Penyebaran biji benih *Rafflesia* sp. pula dicadangkan dilakukan oleh haiwan yang memakan atau yang mendekatinya. Babi hutan, tupai tanah, semut, anai-anai dan gajah telah dicadangkan sebagai agen penyebar biji benih. Di samping itu udara dan air juga difikirkan terlibat di dalam penyebaran biji *Rafflesia* sp. bagi jarak yang dekat (Ervival A.M.Zuhud,1991).

Menurut seorang pengembara German , bau bunga *Rafflesia* sp. adalah lebih busuk daripada bangkai kerbau (Mjoberg,1928). Walaupun begitu , didapati juga beberapa spesies *Rafflesia* sp. yang tidak menghasilkan bau. Contohnya *R. pricei* Meijer dan *R. tengku-adlinii* Mat Salleh & Latiff, walaupun begitu suatu bau yang dalam atau tidak menyenangkan dapat dihidu apabila disedut pada bunga tersebut (Kamarudin Mat Salleh,1991).

Sebenarnya proses biji benih itu memulakan pertumbuhan masih belum jelas. Biji yang melekat pada perumah akan tumbuh dan mengeluarkan filamen-filamen yang menembus dan menjalar ke dalam akar perumah di mana ia akan mendapat bekalan makanan daripada perumah. Apabila bekalan makanan telah mencukupi, maka pertumbuhan tunas itu akan dipercepat. Lebih kurang satu tahun setengah kemudiannya, suatu tunas yang berbentuk kubis dan berwarna perang kemerahan akan muncul dari permukaan akar perumah . Tunas ini kemudiannya akan mengalami proses tumbesaran selama lebih kurang sembilan bulan lagi sebelum berkembang menjadi bunga yang matang (Kiew, 1983).

Bunga *Rafflesia* sp. walaupun mempunyai saiz yang mengagumkan tetapi tidak berkembang untuk jangkamasa yang lama. *R. pricei* Meijer misalnya mula

menunjukkan tanda-tanda kemerosotannya dua atau tiga hari selepas bunganya mula membuka . Walaubagaimanapun, sisa bunga ini boleh bertahan selama beberapa minggu atau bulan. Perkembangan tunasnya juga adalah perlahan dan ini memungkinkan bahaya kepada spesies ini (Beaman dan Adam, 1983).

Terdapat beberapa usaha untuk membiakkan *R. arnoldii* R. Brown. Biji-biji telah didebungakan di dalam akar memanjat pokok *Tetrastigma* sp. pada tahun 1884, walaupun begitu cubaan ini gagal. Pada tahun 1985, satu lagi usaha telah dibuat untuk membiakkan *Rafflesia* sp. di atas perumah *Tetrastigma* sp. di Botanical Garden, Singapura (Meijer, 1985).

Di antara faktor-faktor yang menyebabkan bunga ini sukar berkembang dengan baik ialah ia memerlukan perumah yang khusus iaitu tumbuhan pemanjat berkayu *Tetrastigma* sp. Tempoh perkembangan yang memakan masa yang panjang iaitu satu tahun setengah bagi memulakan perkembangan tunas dari akar perumah . Tunas ini pula memerlukan masa lebih kurang sembilan bulan untuk membesar sebelum menjadi bunga yang kembang atau matang (Kiew, 1990). Manakala tunas-tunas pula mudah terdedah kepada kemusnahan atau kematian. Menurut Meijer (1958), lebih kurang dua pertiga daripada tunas-tunas *R. arnoldii* R. Brown gugur sebelum mencapai kematangan.

Aktiviti manusia seperti kegiatan pembalakan dan pembersihan hutan untuk kegiatan pertanian telah menyebabkan perubahan persekitaran bagi pertumbuhan *Rafflesia* sp. Ini telah menyebabkan pertumbuhan spesies ini terganggu, di mana ia amat memerlukan persekitaran parasitik yang terkhusus. Jadi penebangan pokok *Tetrastigma* sp. dengan berleluasa telah menyebabkan *Rafflesia* sp. tidak dapat hidup kerana ketiadaan perumahnya (Ghazali et al., 1988).

Di samping itu, kepupusan *Rafflesia* sp. juga terjadi disebabkan oleh kegunaannya kepada manusia. Dipercayai tunas bunga *Rafflesia* sp. dapat digunakan sebagai ubat. Tunas bunga *Rafflesia* sp. dikehendaki oleh bomoh-bomoh kampung dan

sinseh Cina bagi tujuan perubatan. Dipercayai air rebusan tunas-tunas *Rafflesia* sp. diminum oleh ibu-ibu yang baru bersalin untuk mengembalikan kekuatan dan kesihatan mereka (Ghazali et al., 1988).

3.0 BAHAN DAN KAEDAH

3.1 Kerja lapangan

Di dalam kajian yang dilakukan ini, tunas-tunas dan bunga *R. hasseltii* Suringar telah dikutip di kawasan hutan simpan Manong, Kuala Kangsar, Perak. Dengan bantuan seorang penduduk kampung yang mahir dengan selok-belok kawasan hutan ini, saya dan Encik Rasyid (jurugambar Pusat Pengajian Sains Kajihayat) telah dibawa ke kawasan *R. hasseltii* Suringar ini tumbuh. Seperti yang diceritakan di dalam pengenalan, di kawasan pertama terdapat sisa-sisa bunga yang telah reput dan didapati juga tunas-tunas pelbagai saiz pada akar perumah iaitu *Tetrastigma* sp. . Di kawasan kedua, selepas berjalan lebih kurang setengah jam, kami telah menemui sekuntum bunga yang sedang kembang serta tunas-tunas pelbagai saiz juga.

Tunas-tunas dan bunga *R. hasseltii* Suringar ini kemudian dikutip untuk diperhatikan melalui kajian mikroskop cahaya (slaid) dan mikroskop elektron penskanan di makmal.

3.2 Tunas-tunas dan bunga *R. hasseltii* Suringar

Dalam kajian ini, lima peringkat *R. hasseltii* Suringar telah digunakan. Empat peringkat ialah tunas (A,B,C dan D) serta satu peringkat iaitu bunga kembang (E). Di bawah dijadualkan bilangan tunas dan bunga, diameter (cm) dan berat (gm) bagi setiap peringkat A,B,C,D dan E. Julat dan min bagi diameter (cm) dan berat (gm) juga dicatatkan bagi setiap peringkat.

Jadual 1.2 Menunjukkan bilangan tunas dan bunga , diameter (cm) dan berat (gm) bagi setiap peringkat A,B,C,D dan E. Julat dan min bagi diameter(cm) dan berat(gm) juga disertakan bagi setiap peringkat.

A. Tunas

Diameter(cm)	Berat(gm)
1. 6.8	200
2. 7.2	250
3. 6.9	200
4. 7.8	250
Julat: 6.8-7.8	200-250
Min: 7.175	225

B. Tunas

Diameter(cm)	Berat(gm)
1. 8.5	300
2. 8.3	300
3. 9.0	350
4. 8.5	300
Julat: 8.3-9.0	300-350
Min: 8.575	312.5

C. Tunas

Diameter (cm)	Berat(gm)
1. 12.0	650
2. 9.9	400
Julat: 9.9-12.0	400-650
Min: 10.95	525

D. Tunas

Diameter(cm)	Berat(gm)
1. 16	1100
Julat: 16	1100
Min: 16	1100

E. Bunga

Diameter(cm)	Berat(gm)
1. 86	2800
Julat: 86	2800
Min: 86	2800

3.3 Bahan-bahan bagi persediaan slaid

3.3.1 Penetap Formalin-asid Asetik Alkohol (FAA)

3.3.2 Alkohol Tertiar butil (TBA)

3.3.2.1 50%

3.3.2.2 70%

3.3.2.3 85%

3.3.2.4 95%

3.3.3 Alkohol Tertiar Butil mutlak (TBA mutlak)

3.3.4 TBA mutlak 1

3.3.5 TBA mutlak 2

3.3.6 Xilena

3.3.7 Xilena cair

3.3.8 Lilin cair 1

3.3.9 Lilin cair 2

3.3.10 Lilin 3

3.3.11 Lilin tulen

3.3.12 Acuan blok

3.3.13 Mikrotom

3.3.14 Slaid kaca dan penutup

-
- 3.3.15 Ketuhar
 - 3.3.16 Forcep
 - 3.3.17 Perekat Meyers
 - 3.3.18 Fast green
 - 3.3.19 Safranin
 - 3.3.20 Kertas label
 - 3.3.21 Berus lukisan
 - 3.3.22 Mikroskop cahaya
 - 3.3.23 Blok kayu
 - 3.3.24 Termometer
 - 3.3.25 Alkohol
 - 3.3.25.1 30%
 - 3.3.25.2 50%
 - 3.3.25.3 70%
 - 3.3.25.4 80%
 - 3.3.25.5 95%
 - 3.3.25.6 100%
 - 3.3.26 Pelekap Canada Balsum

3.4 Bahan-bahan bagi pengamatan sampel melalui mikroskop elektron penskanan

- 3.4.1 Botol dan penutup
- 3.4.2 Pisau
- 3.4.3 Forcep
- 3.4.4 Freeze mikrotom
- 3.4.5 Penetap Karnosky's
- 3.4.6 Larutan tampan Kakodilat
- 3.4.7 Osmium tetroksida
- 3.4.8 Kebuk asap
- 3.4.9 Penyedut
- 3.4.10 Alkohol
 - 3.4.10.1 50%

3.4.10.2 70%

3.4.10.3 85%

3.4.10.4 100%

3.4.11 Desikator

3.4.12 Stub

3.4.13 Lapisan emas

3.4.14 Sputter coater polaron

3.4.15 Mikroskop elektron penskanan

3.5 Persediaan slaid

3.5.1 Penetapan

Tisu tumbuhan ditetapkan dengan penetap FAA selama 12-24 jam.

3.5.2 Pendehidratan

Tisu tumbuhan yang telah ditetapkan dimasukkan ke dalam larutan TBA bersiri secara beransur-ansur seperti berikut:

3.5.2.1 50% TBA selama 2 jam

3.5.2.2 70% TBA selama 4 jam

3.5.2.3 85% TBA selama 8 jam

3.5.2.4 95% TBA selama 8 jam

3.5.2.5 TBA mutlak selama 12 jam

3.5.2.6 TBA mutlak 1 selama 12 jam

3.5.2.7 TBA mutlak 2 selama 12 jam

3.5.3. Penjernihan

Tisu tumbuhan dipindahkan ke dalam larutan berikut:

3.5.3.1 Xilena selama 24 jam

3.5.3.2 Xilena cair selama 24 jam

3.5.4 Penyerapan lilin

Tisu tumbuhan dipindahkan ke dalam lilin cair seperti berikut:

3.5.4.1 Lilin cair 1 selama 12 jam

3.5.4.2 Lilin cair 2 selama 12 jam

3.5.4.3 Lilin 3 selama 12 jam

3.5.5 Penanaman dan pemblokkan tisú

3.5.5.1 Acuan disediakan.

3.5.5.2 Acuan diisi dengan lilin tulen.

3.5.5.3 Tisu tumbuhan dipindahkan ke dalam acuan yang mengandungi lilin tulen tadi. Forcep yang dipanaskan digunakan untuk menggalakkan keberatan lilin semasa proses pindahan .

3.5.5.4 Kedudukan tisú ditetapkan di dalam blok lilin dengan forcep yang dipanaskan tadi.

3.5.5.5 Blok yang terbentuk disimpan di dalam peti ais , sehingga lilin betul-betul keras.

3.5.5.6 Blok lilin diasingkan daripada acuan apabila telah keras dan beku.

3.5.5.7 Blok lilin ditetapkan pada satu blok kayu yang berukuran lebih kurang 2 cm x 2 cm x 2 cm.

3.5.6 Pemotongan tisú

3.5.6.1 Blok lilin diletakkan ke atas alat mikrotom.

3.5.6.2 Tisu tumbuhan dipotong dengan ketebalan 8.0-12.0 u.

3.5.7 Perekatan

3.5.7.1 Keratan tisú tumbuhan diletakkan ke dalam air yang hangat pada suhu 40 °C supaya lilin dan tisú dapat berkembang. Berus lukisan digunakan untuk memindahkan tisú tumbuhan ini. Suhu air tidak boleh melebihi 60 °C , kerana lilin akan cair.

3.5.7.2 Apabila tisú sudah berkembang dengan baik, keratan tisú diletakkan ke atas slaid kaca yang bersih.

3.5.7.3 Tisú dilekatkan pada slaid kaca dengan perekat Meyers .

3.5.7.4 Slaid dibiarkan kering di dalam ketuhar pada suhu 45° C selama 48 jam.

3.5.8 Pewarnaan tisú tumbuhan

Pewarna yang digunakan ialah safranin dan fast green . Slaid yang telah melalui proses perekatan dan telah kering perlu dimasukkan ke dalam siri larutan berikut:

-
- 3.5.8.1 Xilena 1 selama 10 minit
 - 3.5.8.2 Xilena 2 selama 5 minit
 - 3.5.8.3 Xilena : Alkohol 100% selama 5 minit
 - 3.5.8.4 Alkohol 95% selama 5 minit
 - 3.5.8.5 Alkohol 80% selama 5 minit
 - 3.5.8.6 Alkohol 70% selama 5 minit
 - 3.5.8.7 Alkohol 50% selama 5 minit
 - 3.5.8.8 Safranin : Alkohol 50% selama 2-24 jam
 - 3.5.8.9 Air selama 2 minit
 - 3.5.8.10 Fast green selama 2 minit
 - 3.5.8.11 Air selama 2 minit
 - 3.5.8.12 Alkohol 30% selama 2 minit
 - 3.5.8.13 Alkohol 50% selama 2 minit
 - 3.5.8.14 Alkohol 70% selama 2 minit
 - 3.5.8.15 Alkohol 95% selama 2 minit
 - 3.5.8.16 Alkohol 100% selama 2 minit
 - 3.5.8.17 Alkohol : Xilena selama 2 minit
 - 3.5.8.18 Xilena selama 2 minit

3.5.9 Penutupan

Proses menutup slaid yang mengandungi tisu bersih dengan penutup slaid setelah dititikan dengan pelekapan Canada Balsam.

3.6 Persediaan tisu bagi pengamatan melalui mikroskop elektron pensakanan

- 3.6.1 Tisu yang telah dipotong dengan freeze mikrotom ditetapkan di dalam larutan penetap Karnovsky's .
- 3.6.2 Tisu yang telah ditetapkan tadi dipindahkan ke dalam larutan tampan kakodilat selama 10 minit . Langkah ini diulangi sebanyak 3 kali.
- 3.6.3 Tisu kemudiannya ditetapkan di dalam osmium tetroksida yang disediakan di dalam larutan tampan yang sama di dalam kebuk asap selama 1-2 jam pada suhu 4 ° C.

3.6.4 Tisu yang ditetapkan ini ,sekali lagi dibasuh dengan larutan tampan kakodilat selama 10 minit . Langkah ini diulangi sebanyak 2 kali.

3.6.5 Selepas itu tisul ini dihidrasikan di dalam satu siri alkohol iaitu:

3.6.5.1 Alkohol 50% selama 10 minit

3.6.5.2 Alkohol 70% selama 10 minit

3.6.5.3 Alkohol 85% selama 10 minit

3.6.5.4 Alkohol 95% selama 10 minit

3.6.5.5 Alkohol 100% selama 10 minit (diulangi sebanyak 3 kali).

3.6.6 Tisu kemudian dipindahkan ke dalam pemegang spesimen CPD (critical point drying). Pemegang spesimen perlu mengandungi alkohol yang menutupi tisul.

3.6.7 Tisu kemudian dikeringkan di dalam desikator.

3.6.8 Tisu yang telah kering dilekatkan di atas 'stub' dengan 'double tape' dan disalutkan dengan lapisan emas dengan alat 'sputter coater' polaron.

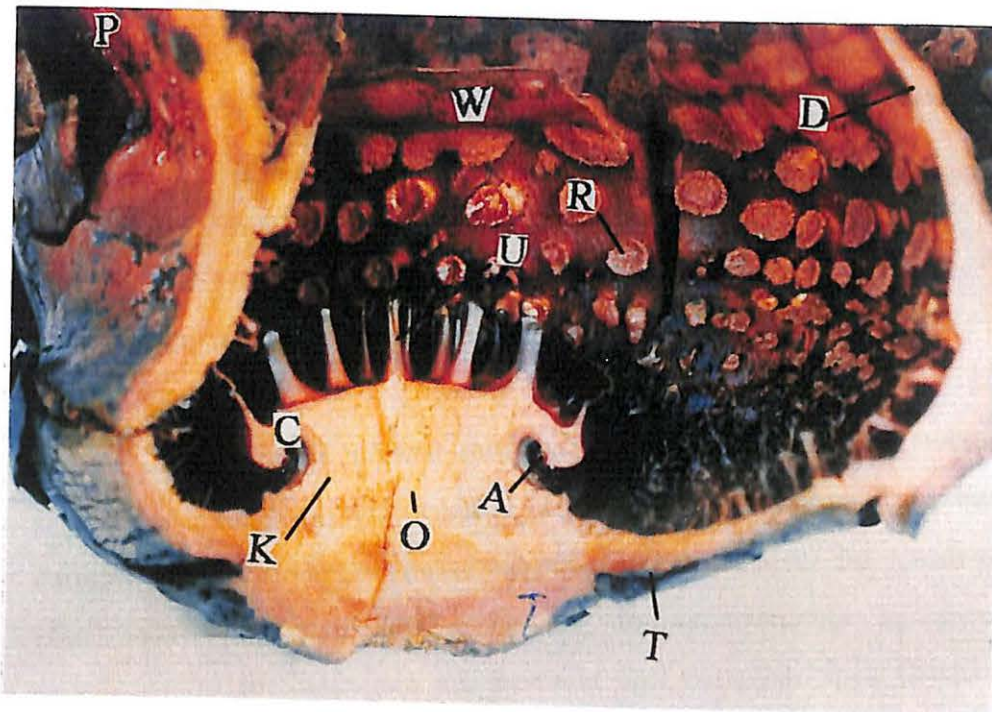
3.6.9 Tisu dilihat melalui mikroskop elektron penskanan.

4.0 KEPUTUSAN

4.1 Morfologi keratan memanjang bunga *R. hasseltii* Suringar

Kajian morfologi bunga *R.hasseltii* Suringar ini melibatkan keratan memanjang ke atas bunga kembang (E).

Berdasarkan kepada gambar keratan memanjang bunga kembang (E) ini, struktur-struktur yang didapati adalah seperti tiub perigon, cuping perigon (petal), diafragma, kolum turus tengah, anter, ovari, unjuran (processes), cakera, ramenta dan tingkap (window) (Gambar 1).



Gambar 1: Keratan memanjang bunga kembang E, menunjukkan struktur tiub perigon (T), cuping perigon (petal) (P), diafragma (D), kolum turus tengah (K), anter (A), ovari (O), unjuran (processes) (U), cakera (C), ramenta (R) dan tingkap (window) (W).

4.2 Anatomi

4.2.1 Ramenta

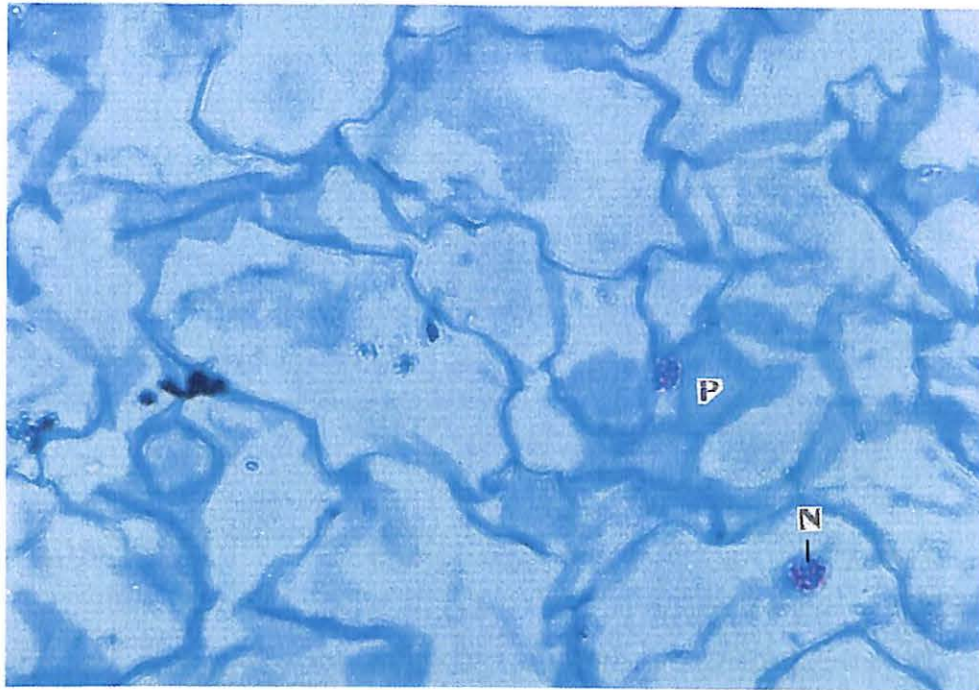
Ramenta bagi bunga kembang (E) dikaji melalui gambar-gambar mikroskop cahaya. Ramenta yang dikaji boleh dibahagikan kepada tiga bahagian iaitu:

- a) ramenta 1
- b) ramenta 2
- c) ramenta 3

Kajian anatomi struktur ramenta telah dijalankan ke atas bunga yang sedang kembang (E). Seperti yang telah dijelaskan di atas ramenta pada bunga ini terdiri daripada tiga jenis, yang mana kedudukan ramenta-ramenta ini adalah pada diafragma iaitu pada permukaan sebelah dalam. Ramenta-ramenta ini menutupi seluruh permukaan dalam diafragma ini, bermula dari bahagian apek (berhampiran bukaan diafragma) sehinggalah pada bahagian dasarnya, di mana ia bercantum dengan bahagian dasar kolum turus tengah.

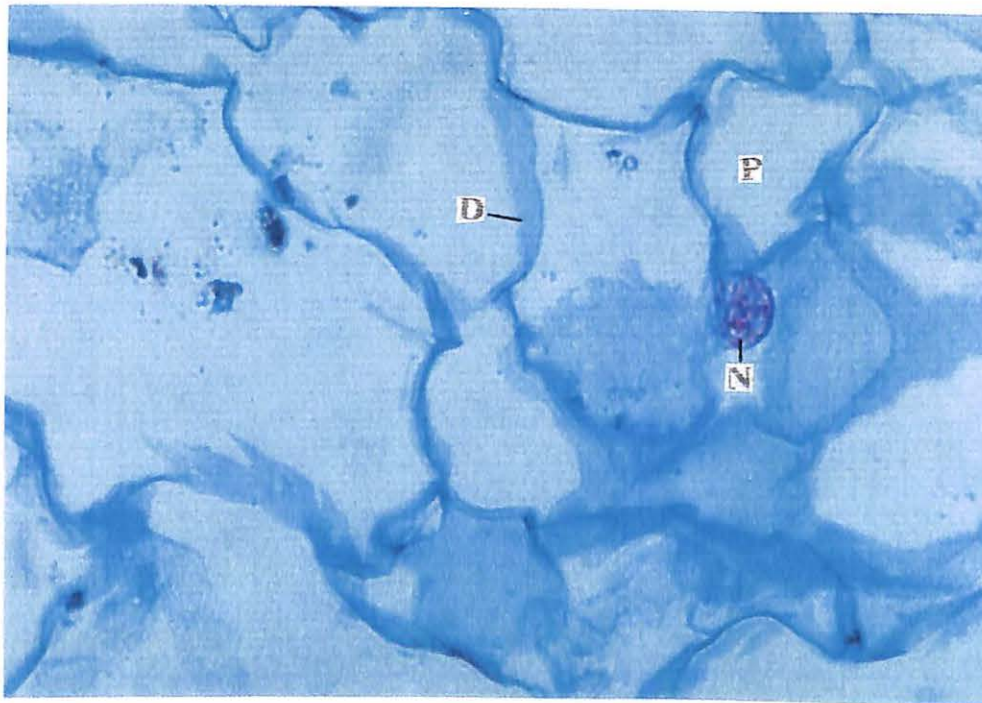
Ramenta satu, yang letaknya pada lapisan permukaan dalam diafragma iaitu bahagian paling atas diafragma mempunyai bentuk yang bulat dan bujur serta tebal. Tangkainya pendek, manakala pada bahagian apek atau hujung ramenta ini mempunyai bentuk berglobul.

Ramenta dua pula mempunyai apek yang berbentuk globul juga tetapi saiznya lebih kecil sedikit berbanding dengan saiz apek ramenta satu. Manakala tangkainya lebih panjang dan lebih kecil berbanding dengan tangkai ramenta satu.



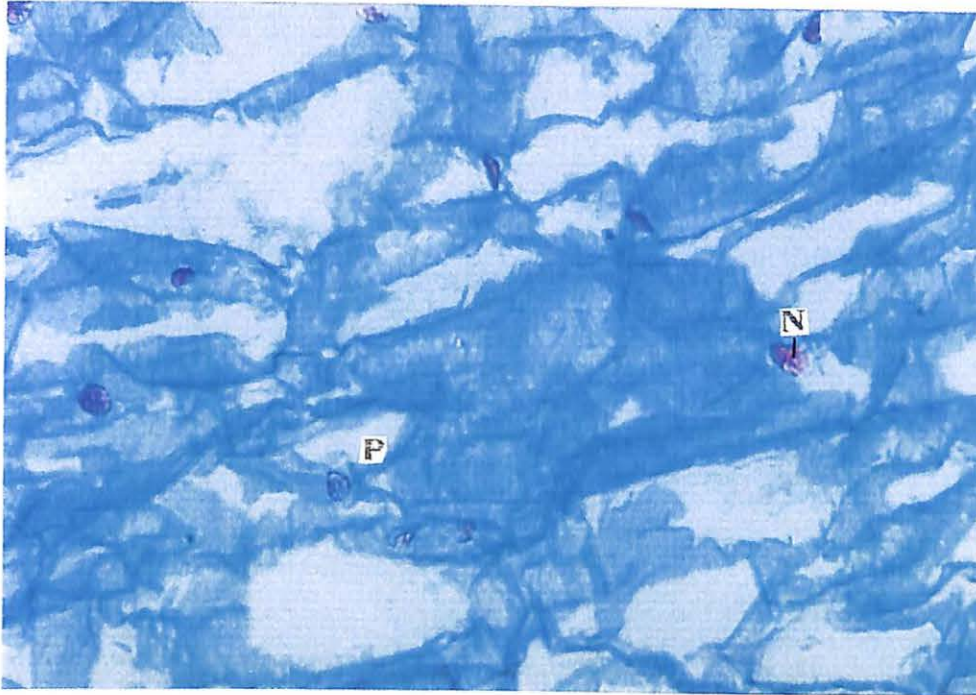
Gambar 2: Ramenta satu menunjukkan sel-sel parenkima pada bahagian apek pada keratan memanjang (Pemb. x200).

P = sel parenkima N = nukleus

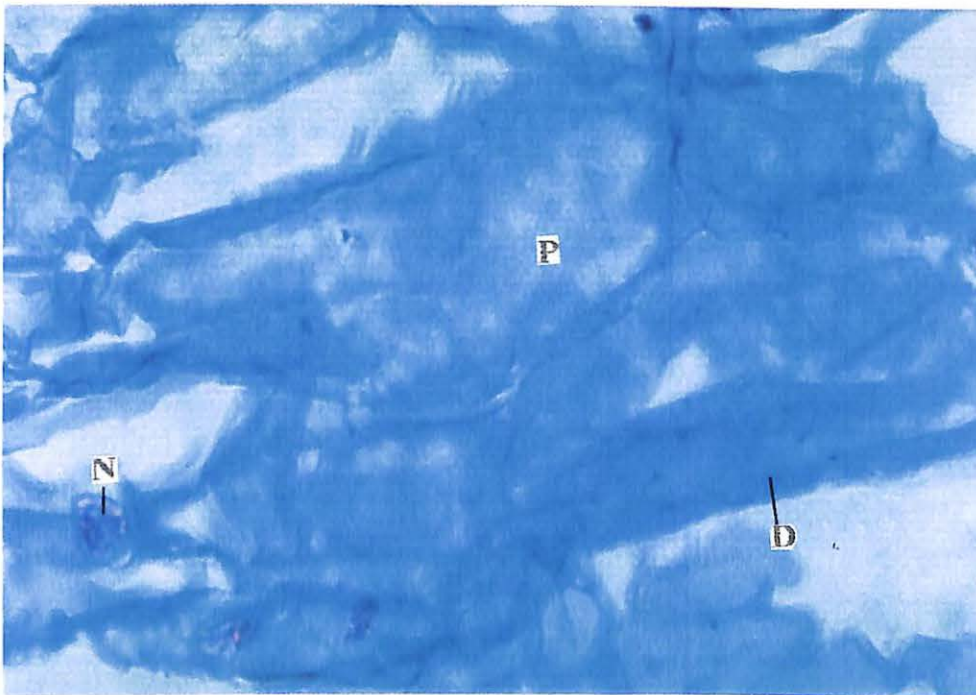


Gambar 3: Ramenta satu pada bahagian apek menunjukkan sel-sel parenkima pada keratan memanjang. Kelihatan nukleus yang berwarna merah dan penebalan pada dinding sel (Pemb. x400).

P = sel parenkima N = nukleus D = penebalan dinding



Gambar 4: Ramanta dua menunjukkan sel-sel parenkima pada bahagian apek melalui keratan memanjang (Pemb. x100).
P = sel parenkima N = nukleus



Gambar 5: Ramanta dua menunjukkan sel-sel parenkima pada bahagian apek, kelihatan terdapat penebalan dinding dan nukleus sel melalui keratan memanjang (Pemb. x200).
P = sel parenkima N = nukleus D = penebalan dinding